

## Best Available Copy

## RECOVERY METHOD OF HAEMOFILTRATION RESIDUE

Publication number: JP2000180443

Publication date: 2000-06-30

Inventor: SESHIMOTO OSAMU; YAZAWA KENICHIRO; ARAI TAKAYOSHI

Applicant: FUJI PHOTO FILM CO LTD

Classification:

- international: B01D29/01; B01D29/66; B01D29/94; B01D39/20; B01D61/14; B01D61/18; G01N1/28; G01N33/48; G01N33/49; B01D29/01; B01D29/66; B01D29/88; B01D39/20; B01D61/14; B01D61/18; G01N1/28; G01N33/48; G01N33/49; (IPC1-7): G01N33/48; B01D29/01; B01D29/66; B01D29/94; G01N33/49

- european: B01D39/20B4; B01D61/14; B01D61/18; G01N1/28A; G01N33/49C

Application number: JP19980355475 19981215

Priority number(s): JP19980355475 19981215

Also published as:

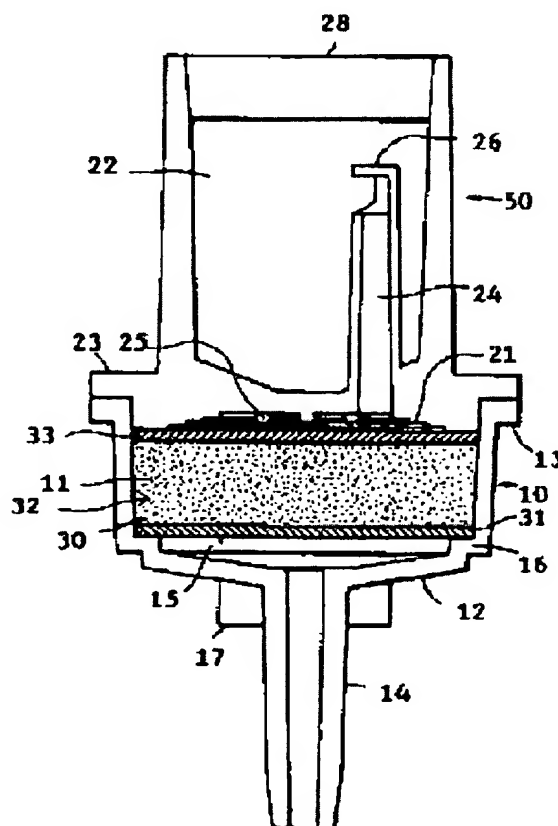
US6375856 (B1)

Report a data error here

Abstract of JP2000180443

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide a method of preparing sample of corpuscles which can be carried out with a simple means and less deformation, and moreover, easy observed.

**SOLUTION:** A hemofilter herein used comprises a haemofiltration material 30 made of a volumetric filtering material and a holder 10 which houses the material and has a blood inlet 14 and a filter liquid outlet 28. After the haemofiltration by using the hemofilter, a filtration residue is recovered as accumulated on the haemofiltration material 30 adapted to let recovery water pass from the side of the filter liquid outlet.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号  
特開2000-180443  
(P2000-180443A)

(43) 公開日 平成12年6月30日 (2000.6.30)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード* (参考)
G 0 1 N 33/48		C 0 1 N 33/48	H 2 G 0 4 j
B 0 1 D 29/01		33/49	A
29/66		B 0 1 D 29/04	5 1 0 D
29/94			5 2 0 B
G 0 1 N 33/49			5 3 0 A

審査請求 未請求 請求項の数 1 O L (全 6 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平10-355475

(22) 出願日 平成10年12月15日 (1998. 12. 15)

(71) 出願人 000005201

富士写真フイルム株式会社  
神奈川県南足柄市市沼210番地

(72) 発明者 瀬志本 修

埼玉県朝霞市泉水三丁目11番46号 富士写真フイルム株式会社内

(72) 発明者 矢沢 建一郎

埼玉県朝霞市泉水三丁目11番46号 富士写真フイルム株式会社内

(74) 代理人 100085109

弁理士 田中 政浩

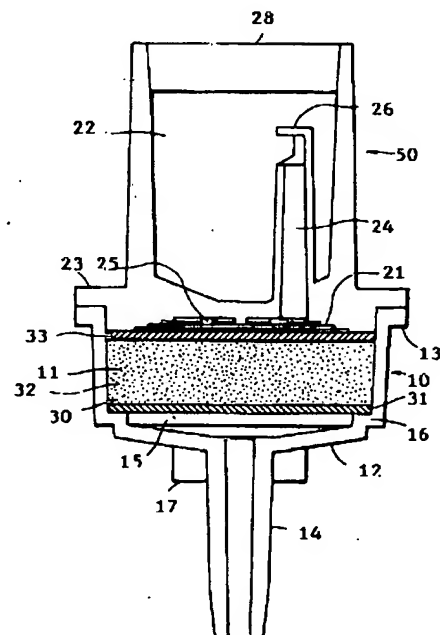
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 血液濾過残留物の回収方法

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 簡単な手段で変形が少なく、しかも観察しやすい血球試料を調製する方法を提供する。

【解決手段】 上記課題は、体積濾過材料よりなる血液濾過材料と、これを収容し血液入口と濾過液出口を有するホルダーよりなる血液濾過器を用いて血液濾過を行った後、濾過液出口側から回収水を通液することを特徴とする血液濾過材料に堆積している濾過残留物を回収する方法によって解決される。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 体積濾過材料よりなる血液濾過材料と、これを収容し血液入口と濾過液出口を有するホルダーよりなる血液濾過器を用いて血液濾過を行った後、濾過液出口側から回収水を通過することを特徴とする血液濾過材料に堆積している濾過残留物を回収する方法

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は全血から血球成分を回収する方法に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】血液の分析は、大きく血球成分と血漿成分に分けられるが、主に分析されるのは血漿成分のほうである。

【0003】一方、血球成分の分析としては赤血球や白血球等の外形に基づく分析と内容物の分析がある。外形に基づく分析では、例えば白血球の場合には、芽細胞から各種成育段階の細胞、あるいは、顆粒白血球、リンパ球等の各種白血球の構成割合や大きさ、形の正常、異常等が調べられる。内容物の分析では、DNAの分析とか赤血球のヘモグロビンの含有量等の分析が行われる。外形に基づく分析の場合には、多くは全血のまま顕微鏡観察されるが、遠心分離して血球成分を集めることもある。内容物の分析を行う場合には遠心分離で血球を集めて更に分離精製が行われる。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】血球成分の外形に基づく分析を行う場合観察しにくいという問題がある。一方、遠心分離を行えばこの見にくさの問題は解消されるが、遠心分離によって形がこわれやすいという問題がある。

【0005】本発明の目的は、簡単な手段で変形が少なく、しかも観察しやすい血球試料を調製する方法を提供することにある。溶血させて血球中の成分を測定する場合、赤血球を洗浄することで血漿中蛋白の妨害を防止できる。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、先に血漿成分分析のための血漿の分離方法として、遠心分離は手間と時間がかかり、特に、少数の検体を急いで処理したときや、現場検査などには、電気を動力とし、遠心分離機を必要とする遠心法は不向きであることに着目し、濾過により全血から血漿や血清を分離する血液濾過ユニットの開発を進めてきた（特開平9-196911号公報、特開平9-276631号公報、特開平10-185780号公報、特開平10-185909号公報、特開平10-227788号公報など）。

【0007】今回、この血液濾過ユニットで濾過した後の体積濾過材料内に堆積している血球成分を逆洗して回収することにより、血球成分を変形少なく回収でき、こ

の血球成分が外形に基づく分析等に極めて好適であることを見出し、この知見に基づいて本発明を完成するに至った。溶血させて血球中の成分を測定する場合、赤血球を洗浄することで血漿中蛋白の妨害を防止できる。

【0008】すなわち、本発明は、体積濾過材料よりなる血液濾過材料と、これを収容し血液入口と濾過液出口を有するホルダーよりなる血液濾過器を用いて血液濾過を行った後、濾過液出口側から回収水を通過することを特徴とする血液濾過材料に堆積している濾過残留物を回収する方法に関するものである。逆洗の前に血球を洗浄し蛋白を除くことも有効である。

## 【0009】

【発明の実施の形態】血液濾過材料の種類は問わないが、本発明の濾過材料では、その表面のみで血球をトラップするいわゆる表面濾過材料ではなく、ガラス繊維濾紙等の厚さ方向に浸透するに従って、初めは大きな血球成分、後には小さな血球成分と徐々に空隙構造にからめ、厚さ方向に全長にわたって血球を留め除去していく、いわゆる体積濾過材料によるものが使用される。好ましいものはガラス繊維濾紙等であり、ガラス繊維濾紙に微多孔性膜を組み合わせたものが特に好ましい。

【0010】ガラス繊維濾紙は密度が0.02～0.5程度、好ましくは0.03～0.2程度、特に好ましくは0.05～0.13程度で、保留粒子径が0.6～9 $\mu$ m程度、特に1～5 $\mu$ m程度のものが好ましい。ガラス繊維の表面を、特開平2-208565号公報、同4-208856号公報に記載された様な方法で、親水性高分子で処理することによって濾過をより速やかに円滑に行なうことができる。また、ガラス繊維の表面をレクチンで処理することもできる。ガラス繊維濾紙は複数枚を積層して用いることができる。ガラス繊維濾紙はシート状のものを積み重ねて使用するほか、細断小片としてホルダーに充填することもできる。1枚のガラス繊維濾紙の厚さは0.2～3mm程度、通常0.5～2mm程度である。これを径が10～30mm程度、好ましくは15～25mm程度に細断するのである。細断小片の形状は問うところではなく、正方形、長方形のほか三角形、円形等如何なる形状であってもよい。

【0011】表面を親水化されており血球分離能を有する微多孔性膜は、実質的に分析値に影響を与える程には溶血することなく、全血から血球と血漿を特異的に分離するものである。この微多孔性膜は孔径がガラス繊維濾紙の保留粒子径より小さくかつ0.2 $\mu$ m以上、好ましくは0.3～5 $\mu$ m程度、より好ましくは0.5～3 $\mu$ m程度のものが適当である。また、空隙率は高いものが好ましく、具体的には、空隙率が約40%から約95%、好ましくは約50%から約95%、さらに好ましくは約70%から約95%の範囲のものが適当である。微多孔性膜の例としてはポリスルホン膜、弗素含有ポリマー膜等がある。

【0012】好ましい微多孔性膜はポリスルホン膜、酢酸セルロース膜等であり、特に好ましいのはポリスルホン膜である。本発明の血液濾過材料においてはガラス繊維濾紙が血液供給側に配置され、微多孔性膜が吸引側に配置される。最も好ましい材料は血液供給側からガラス繊維濾紙、ポリスルホン膜をこの順に積層した積層体である。

【0013】本発明で用いられる濾過材料は特開昭62-138756〜8号公報、特開平2-105043号公報、特開平3-16651号公報等に開示された方法に従って各層を部分的に配置された接着剤で接着して一体化することができる。

【0014】ガラス繊維濾紙層の厚さは、回収すべき血漿や血清の量とガラス繊維濾紙の密度(空隙率)及び面積から定められる。分析を乾式分析素子を用いて複数項目行なう場合の血漿や血清の必要量は100〜500 $\mu$ lであり、ガラス繊維濾紙の密度が0.02〜0.2程度、面積が1〜5 $\text{cm}^2$ 程度が実用的である。この場合ガラス繊維濾紙層の厚さは1〜10mm程度、好ましくは2〜8mm程度である。このガラス繊維濾紙は複数枚、例えば2〜10枚程度、好ましくは3〜8枚程度を積層して上記厚さとすることができる。

【0015】微多孔性膜の厚さは0.05〜0.5mm程度、特に0.1〜0.3mm程度でよく、通常は1枚の微多孔性膜を用いればよい。しかしながら、必要により複数枚を用いることもできる。

【0016】血液濾過材料はホルダーに入れられる。このホルダーには血液入口と濾過液出口が設けられ、一般に血液濾過材料を収容する本体と、蓋体に分けた態様で作製される。通常は、いずれにも少なくとも1個の開口が設けられていて、一方は血液入口として、他方は濾過液出口として、場合により更に吸引口として使用される。吸引口を別に設けることもできる。ホルダーが四角形で蓋体を側面に設けた場合には血液入口と濾過液出口の両方を本体に設けることができる。

【0017】血液濾過材料収納部すなわち血液濾過室の容積は、収納すべき濾過材料の乾燥状態および検体(全血)を吸収し膨潤した時の総体積より大きい必要がある。濾過材料の総体積に対して収納部の容積が小さいと、濾過が効率良く進行しなかったり、溶血を起こしたりする。収納部の容積の濾過材料の乾燥時の総体積に対する比率は濾過材料の膨潤の程度にもよるが、通常101%〜400%、好ましくは110%〜150%、更に好ましくは120%〜140%である。具体的には血漿や血清の必要量との関係で定まるが0.5〜2.5ml程度、通常0.6〜2.2ml程度である。

【0018】また、体積濾過材料と収納部の壁面との間は、全血を吸引した時に体積濾過材料を経由しない流路が出来ないように構成されていることが好ましい。但し、微多孔性膜で止めうる程度の血球が漏れてきても支

障はない。

【0019】採血管から血液を吸引するノズルはホルダーの血液入口に接続される。このノズルはホルダーと本体であっても別体であってもよい。別体の場合、ホルダー本体に固着して接続部が密閉構造になっていればよく、接続手段は接着、融着、螺着、嵌着、ネジ止等いかなる手段であってもよい。

【0020】濾過器は、上記本体に蓋体が取付けられると、これらの血液入口と吸引口としても使用される濾過液出口を除いて全体が密閉構造になる。

【0021】ホルダーの材料はプラスチックが好ましい。例えば、ポリスチレン、ポリメタクリル酸エステル、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリエステル、ナイロン、ポリカーボネート等の透明あるいは不透明の樹脂が用いられる。

【0022】上記本体と蓋体の取付方法は、接着剤を用いた接合、融着等如何なる手段によってもよい。この際、上記本体と蓋体のいずれの周縁が内側に位置してもよく、あるいは突き合わせ状態であってもよい。また、上記本体と蓋体をネジ等の手段で組立分解ができる構造とすることもできる。

【0023】血液濾過材料の形状に特に制限はないが、製造が容易なように、円形とすることが望ましい。この際、円の直径をホルダー本体の内径よりやや大きめとし、濾過材料の側面から血漿が漏れることを防ぐことができる。一方、四角形にすれば作製した血液濾過材料の切断ロスがなくなるので好ましい。

【0024】上記の血液濾過器を用いて行う血液濾過方法は特に限定されないが、血球を破壊しないよう、血液入口と濾過液出口間の圧力差を200mmHg以下、好ましくは170mmHg以下、特に好ましくは150mmHg以下とするのがよい。圧力差の下限は特にないが、濾過時間の実用面で30mmHg以上、好ましくは50mmHg以上とすることが望ましい。

【0025】特に好ましい濾過方法は、まず、被濾過血液を供給後、厳密にはガラス繊維濾紙層に接触後少なくとも5秒間血液入口側と濾過液出口側の圧力差を50mmHg以下に保つ。この第1段階における圧力差は50mmHg以下であるが、好ましくは30mmHg以下であり、血液を自然に展開させるだけでもよい。一方、保持時間は5秒間以上であるが、好ましくは10秒間以上である。

【0026】血液の供給量は血液濾過材料の体積の1.2〜5倍程度、好ましくは2〜4倍程度が適当であり、ガラス繊維濾紙の体積ではその1.2〜3倍程度、好ましくは1.2〜2倍程度が適当である。

【0027】上記第1段階後は濾過液出口側からの吸引および/または血液入口側からの加圧によって血液濾過を促進する。この加、減圧手段はベリスタルあるいはシリンジを利用する方法が簡便である。その際に圧力差が

最大でも200mmHg以下とするのがよい。この最大圧力差は好ましくは170mmHg以下であり、特に好ましくは150mmHg以下に抑えるようにする。圧力差の下限は特になく、遅くても良いが、時間がかかるので実用的でなくなる。この点で圧力差が最低で30mmHg、好ましくは50mmHgを越えるようにすることが好ましい。シリンジを用いる場合のピストンを移動させる距離はピストンの移動体積が濾過材料の体積の2～5倍程度になるようにするのがよい。移動速度は1cm<sup>2</sup>当り1～500ml/min程度、好ましくは20～100ml/min程度が適当である。

【0028】ところで、血液はヘマトクリット値に大きなバラツキがあり、それによって濾過抵抗（加減圧に伴う圧力差の上昇速度）が変わる。つまり、一定速度で加、減圧を加えていった場合、ヘマトクリット値の大きな血液では圧力差がどんどん上昇し、血漿や血清の必要量が得られる前に濾過材料の目詰まりによる濾過速度の急激な低下や多大な圧力差の付加による血球破壊を生じてしまう。一方、ヘマトクリット値の小さな血液では濾過速度が大きすぎて血球漏出を生じる。そこで、血液を濾過層に供給後一定の速度パターンで吸引および／または加圧して血液入口側と濾過液出口側の圧力差の経時変化を追跡し、当該圧力差から被濾過血液のヘマトクリット値を推定し、その後の吸引および／または加圧速度を調整することが望ましい。上記一定の速度パターンは通常は一定速度でよいが、同一の速度パターンを採用すれば一定速度でなくともよい。ヘマトクリット値に対応する吸引および／または加圧速度の調整は、ヘマトクリットが高い血液の場合は溶血を起こし易いので、吸引あるいは加圧の変化率を小さく保ち、かつ最大減圧度を低くする（濾過に要する時間を長くする）。低いヘマトクリットの血液では溶血は起こりにくくかつ濾過もし易いので、相対的に高い吸引または加圧で短時間処理すれば良い。

【0029】具体的には、以下の方法が挙げられる。ヘマトクリット値の異なる全血試料を用いて、吸引圧と吸引時間の最適なパターンを予め決めておく。実際の検体の濾過に際してはヘマトクリット値は判らないので、標準的な血液（例えばヘマトクリット値45%）で設定した吸引パターンで吸引を開始し、その後の濾過の進行に伴う濾過圧の変動と基準値との差から検体のヘマトクリット値を推定して、予め決めた最適パターンに合致する吸引条件に合うように吸引圧や吸引時間を調整しながら濾過を行う。

【0030】加圧による濾過においても同様に調整できることはいうまでもない。

【0031】血液濾過が終了したら、得られた血漿あるいは血清を除く。次に、血液濾過器の濾過液出口側から回収水を通液して血液濾過材料に堆積している血球成分を洗い出して回収する。必要な場合は、次に、濾過時と

同じ方向に洗浄水を流し血球を洗う。次いで、出口側から回収水を通液し血球成分を回収する。

【0032】回収水には精製水や生理食塩水、各種緩衝液などが使用される。回収水の使用量は血液濾過材料の容積の0.5～10倍量程度、好ましくは0.5～5倍量程度が適当である。

【0033】この回収水は、血液濾過が終了して空になった血液濾過器内に導入して該濾過器を血液等の保存容器として使用することもできる。

【0034】

【実施例】実施例1

(1)ホルダーの作製

図1～3に示す血液濾過ユニットを作製した。この濾過ユニットは組み立てた状態の縦断面図である図2に示すようにホルダー本体10と蓋体20からなっている。

【0035】ホルダー本体10には血液濾過材料30の収容室11（直径20.1mm）とその上縁から外方に形成されたフランジ13が形成されている。一方、ホルダー本体10の底部には周縁よりやや内側に段部を設けてそこから浅いロート状円板部12が連設され、その中心から下方にノズル状血液供給口14が延設されている。上記の段部は血液濾過材料30の下面をホルダー本体10のロート状円板部12から隔離させて空間15を形成するスペーサー16として機能させている。図1及び図3に示されているように血液供給口14の基部には4方にフラップ17が形成されている。このフラップは血液を入れたサンプル管（図示されていない。）を嵌め込むことによって保持するものである。

【0036】蓋体20の底面は中心に向かって同心円状の段21が4段形成されて中央が凹みここが上部空間を形成している。この底面中央にはサイコロの5の目状に5つの突起25が血液濾過材料の密着を阻止する手段として下方に突出形成されている。また、血漿受槽22の中心と周壁の間に両側を削ぎ落とした煙突状の血漿通路24が上方に起立し、その頂部には血漿の噴出を阻止する庇26が水平方向にせり出している。この庇26は図3に示されているように大小2つの半円を組み合わされた形状をしており、周壁側の半円は血漿通路外壁と一致させ、中心側の半円は血漿通路内壁の延長線と一致させている。血漿通路24の両側部には、血漿の液深を確保するため、血漿受槽22の周壁面に達する仕切壁27が形成されている。血漿受槽22の上端は開放されており、これが吸引口28となっている。蓋体20の底部には外方に突出するフランジ23が形成され、このフランジがホルダー本体のフランジ13と超音波で接着される。フランジ23のホルダー本体のフランジ13と合わさる面にはリブ（図示されていない。）が形成されている。これは接着の際には超音波エネルギーをそこに集めて液密性を十分に確保した状態で接着されるようにしたものである。

## 【0037】(2) 濾過ユニットの作製

(1)のプラスチック製のホルダー(内径20.1mm)のホルダー本体10に、直径20.3mmの円板状に打ち抜いたガラス繊維濾紙(ワットマン社製、GF/D)6枚を重ねて入れ、その上に、直径20.7mmの円板状に打ち抜いた厚さ170 $\mu$ mのポリスルホン多孔膜33(富士写真フイルム社製 SE-200)をのせた。蓋体20をセットし、両者のフランジ13と23を超音波で溶着してシールした。ノズル状血液供給口14に血液吸引用ノズルとしてフジクリーンチップ(富士写真フイルム社製)を装着して、濾過ユニットを完成させた。

## 【0038】(3) 血液の採取

男子健康者より、ヘパリン入り真空採血管(テルモ社製)を用いて静脈血10mlを採血した。この血液のヘマトクリットを測定したところ、44%であった。この血液3mlを容量4mlのプラスチック製試験管に分取した。

## 【0039】(4) 吸引機

排気速度が可変のペリスタポンプと接続されている小型吸引機を作製した。小型吸引機のチューブの先端には、上記濾過ユニットの吸引面と気密状態で接続可能なシリコンゴム製の吸引ビペットを取り付けた。チューブの途中に圧力モニター用のゲージを接続した。

## 【0040】(5) 血液の濾過

(3)で分取した血液に(2)の濾過ユニットの検体吸引ノズルを挿入し、濾過ユニットの他端を吸引機の吸引パッドに接続した。吸引ポンプの排気速度を調節し、30秒後に減圧度が100mmHgに到達するようにしつつ吸引を続けた。10秒後の減圧度は30mmHgであった。

## 【0041】(6) 血漿の回収

吸引に伴って濾過ユニットの貯留槽中に血漿が流出した。量は、330 $\mu$ lであった。血漿の色は淡黄色であり、溶血液や赤血球の混入は観察されなかった。

## 【0042】(7) 濾過残留物の回収

血漿を除いたあと、順方向に生理食塩水を2mlで2回

洗った後、逆方向に2mlで回収する。一部は赤血球を観察したところ破壊した物は認められなかった。残りを溶血させヘモグロビンAICの測定試料とした。

## 【0043】

【発明の効果】本発明により、血液から血球試料を容易に取得することができる。

## 【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明の一実施例である血液濾過ユニットを組み立てた状態の縦断面図である。

【図2】 同上平面図である。

【図3】 上記血液濾過ユニットのホルダー本体の底面図である。

【図4】 各種吸引パターンを示すグラフである。

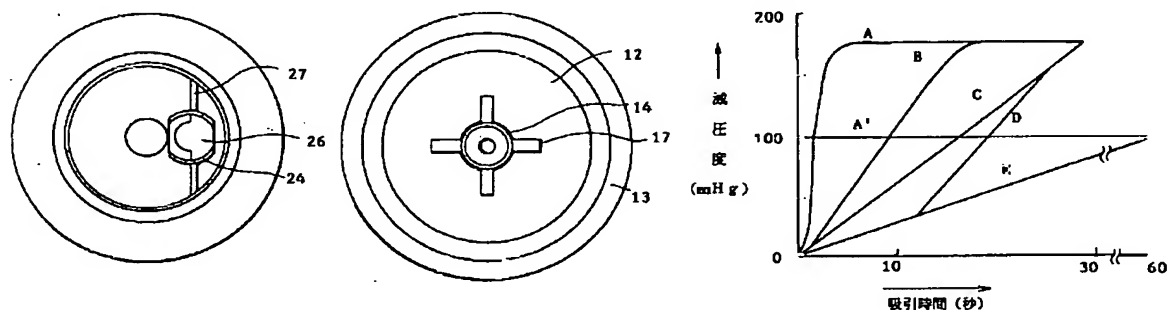
## 【符号の説明】

- 10…ホルダー本体
- 11…血液濾過材料収容室
- 12…円板部
- 13…フランジ
- 14…血液供給口
- 15…空間
- 16…スペーサー
- 17…フラップ
- 20…蓋体
- 21…段
- 22…血漿受槽
- 23…フランジ
- 24…血漿通路
- 25…突起(密着阻止手段)
- 26…底
- 27…仕切壁
- 28…吸引口
- 30…血液濾過材料
- 31…ナイロンメッシュ
- 32…ガラス繊維濾紙フレック層
- 33…ポリスルホン多孔膜(微多孔性膜)

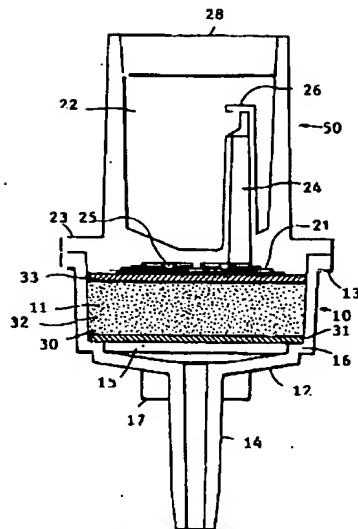
【図2】

【図3】

【図4】



【図1】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I

(参考)

B O I D 29/38  
29/42

5 1 0 A  
5 2 0

(72)発明者 新井 貴喜  
埼玉県朝霞市泉水三丁目11番46号 富士写  
真フィルム株式会社内

Fターム(参考) 2G045 AA02 BA08 BA10 BB06 CA01  
CA25 CA26 HA06 HA14 HB02  
HB03 HB05